

# 插天山羊耳蒜 ( 蘭科植物 ) 無菌播種與小苗培育

邱翊恬<sup>[1]</sup> 邱清安<sup>[2]</sup> 張正<sup>[1]\*</sup>

**摘 要** 插天山羊耳蒜為台灣特有種蘭花，零星分布於全島，也因其株型較大且優美，具發展為觀賞盆花潛力，本文進行其種苗繁殖之研究。插天山羊耳蒜具有線形種子，種子內部具有 91% 的氣室空間，屬於地生型羊耳蒜之特徵。插天山羊耳蒜成熟種子有胚率為 93.3%，發芽率可達 80%，屬於種子發育良好且易進行種子無菌播種之蘭花。成熟種子適合無菌播種於鹽類濃度為 1/4 MS 並添加有機物（蛋白胨、馬鈴薯粉和椰子水）和活性碳之培養基，小苗於瓶內培養時，以 1/2 MS 並添加有機物 and 活性碳之培養基可得到最高的株高、葉數、假球莖寬和根長。本研究已初步建立插天山羊耳蒜由播種至瓶內小苗培育之方法，可應用於後續之種原保存、復育和新興花卉開發之研究。

**關鍵詞：**插天山羊耳蒜、培養基、無菌播種、特有種。

## Asymbiotic Seed Germination and Seedling Establishment of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama (Orchidaceae)

Yi-Tien Chiu<sup>[1]</sup> Ching-An Chiu<sup>[2]</sup> Chen Chang<sup>[1]\*</sup>

**ABSTRACT** *Liparis sootenzanensis* Fukuyama is an endemic orchid in Taiwan and its habitat around the islands. This species has the potential as ornamental plant in the coming future with the big flower and handsome plant sharp among the genus *Liparis*. In this study, we have established the *in vitro* seedling culture procedure. First, we observed the seed on microscope with linear morphology with 91% air space inner the seed, and considered to be a terrestrial species of *Liparis*. The superior quality seeds has 93.3% embryo rate and the 74.7%-80.3% seed germination rate. The mature seed sown in medium containing 1/4 MS basic salts, with organics supplement (peptone, potato powder and coconut water), activated charcoal. And the young seedlings were transferred to 1/2 MS basic salts with organics and activated charcoal to obtain best performance of plant height, leaf number, pseudobulb width and root length. This study has established reliable procedure for *in vitro* seed germination and seedling development of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama, and could be used in germplasm preservation, repopulation and ornamental plant in the future.

**Key Words:** *Liparis sootenzanensis* Fukuyama, medium, Asymbiotic seed germination, endemic.

### 一、前言

羊耳蒜屬(*Liparis*)為蘭科(Orchidaceae)中的一屬，共有 250-260 種，生態習性包含附生蘭和地生蘭，廣泛分布於溫

帶和熱帶地區<sup>[16]</sup>。台灣有 21 種原生羊耳蒜屬蘭花，其中插天山羊耳蒜(*Liparis sootenzanensis* Fukuyama)屬於地生型蘭花，株高約 30-50 cm，具圓柱狀肉質莖，葉約 3-5 片，花期 4-6 月份，單株具有黃綠色花 5-15 朵<sup>[5,16]</sup>。文獻記載插

[1] 國立中興大學園藝學系

Dept. of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan.

[2] 國立中興大學實驗林管理處

Experimental Forest, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan.

\* Corresponding Author. E-mail: chenchang@nchu.edu.tw

天山羊耳蒜為台灣特有種，零星分布於全島海拔 500-1500 m 之楠櫟林帶森林，喜潮濕陰涼之環境，然而近年在中國貴州亦有發現記錄<sup>[8,9,16]</sup>。

蘭科植物的種子非常細小，但數目很多，一個果實具有幾千到幾十萬粒種子。蘭花種子構造簡單，種皮包被球形未成熟胚，胚乳退化不可見，須與真菌共生才可發芽(Symbiotic germination)。直至 1921 年，Knudson 開發蘭花非共生發芽的方法(Asymbiotic germination)，從此無菌播種技術才開始普遍並利用在蘭花繁殖<sup>[21]</sup>。近年因棲地破壞、大量採集等因素造成許多蘭花瀕危，例如金稜邊蘭、細斑牛角蘭和單花脈葉蘭等<sup>[3,11,13]</sup>，甚至罕見的蘭花如彩雲兜蘭<sup>[22]</sup>，亦或是因食藥用需求等原因需大量繁殖的蘭花如綬草、台灣白及和白及等<sup>[2,4,12]</sup>，均有利用無菌播種技術進行復育或繁殖之研究。

插天山羊耳蒜為台灣特有種蘭花，且為台灣產羊耳蒜屬植物中植株最大者，具發展成為觀賞盆花之潛力。而目前並沒有其繁殖相關研究，本研究針對無菌播種和種子苗培育進行試驗，以利後續之種原保存、復育和新興花卉開發之研究。

## 二、材料方法

### (一) 種子性狀調查

試驗材料插天山羊耳蒜從苗栗縣泰安鄉雪霸國家公園雪見遊憩區採集，取已黃熟蒴果之種子置於載玻片上，滴上甘油蓋上蓋玻片，在物鏡 10 倍光學顯微鏡(Zeiss Primo Star, Germany)下，計算載玻片上約 150 粒種子之有胚種子

比率。再以測微尺測量 30 粒種子及胚長度寬度，代入 Swamy *et al.*<sup>[17]</sup>的公式，以計算種子、胚體積及氣室百分率。Swamy *et al.*<sup>[17]</sup>的公式如下：

種子體積 =  $2[(1/2W)^2(1/2L)(1.047)]$ ；胚體積 =  $4/3\pi ab^2$ ；氣室百分率 =  $(\text{種子體積} - \text{胚體積}) / \text{種子體積} \times 100$ 。W = 種子寬、L = 種子長、a = 1/2 胚長、b = 1/2 胚寬。

### (二) 培養基配製

培養基配方詳見表 1，滅菌前 pH 調整為 5.2。播種培養基每試管(Pyrex no.9820)添加 8 mL 之培養基，滅菌後傾斜製成斜面備用。繼代培養基則添加 100 mL 培養基於體積為 617 mL 玻璃瓶中。液體培養基裝入血清瓶中，均以 121°C、1.2 kg·cm<sup>-2</sup> 高溫高壓滅菌 20 min 後冷卻備用。液體播種時於無菌操作台內吸取 5 mL 液體培養基，加入直徑 9 cm 無菌塑膠培養皿(αplus, 臺灣)，再以石蠟膜封口備用。

### (三) 種子發芽試驗

取黃熟但未開裂之蒴果以 2% 次氯酸鈉溶液滅菌 15 min，無菌水漂洗 3 次，於無菌操作台內切開蒴果，以鑷子夾取種子播種於 6 種試驗培養基中(表 1, 1-6 號培養基)，固體培養基每試管播種約 200 粒種子，每種培養基播種 12 支試管，液體培養基每培養皿播種約 500 粒種子，共播種 6 個培養皿，無菌播種後培養於溫度 25±2°C，光週期 12/12 hr，光強度約 5.6 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 之環境。

播種後 12 週於解剖顯微鏡(Nikon Smz 645, Japan)下調查每試管或培養皿中，胚突破種皮之種子數，並計算其發

表 1 試驗培養基配方

Table 1 Experiment medium formula

Medium code	Formula
1	1/4 MS 無機鹽類 <sup>[14]</sup> 、FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O、Na <sub>2</sub> -EDTA 以及維生素為全量、170 mg·L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 、20 g·L <sup>-1</sup> 蔗糖、150 ml·L <sup>-1</sup> 椰子水、100 mg·L <sup>-1</sup> 肌醇(Sigma)、1 g·L <sup>-1</sup> 蛋白脲(Sigma)、6 g·L <sup>-1</sup> 馬鈴薯粉(Technology Laboratories <sup>TM</sup> , 美國)、1 g·L <sup>-1</sup> 活性碳及 8 g·L <sup>-1</sup> agar
2	1 號培養基無機鹽類調整為 1/2 MS
3	1 號培養基移除活性碳
4	1 號培養基無機鹽類改為 VW 配方 <sup>[20]</sup>
5	4 號培養基無機鹽類濃度調整為 1/2VW、FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O、Na <sub>2</sub> -EDTA 以及維生素為全量
6	3 號培養基移除 agar
7	2 號培養基移除椰子水
8	2 號培養基移除活性碳
9	2 號培養基添加 0.1 mg·L <sup>-1</sup> NAA

芽率。

#### (四) 小苗定植培養基試驗

取 1 號培養基進行插天山羊耳蒜之無菌播種，每試管約播種數千粒種子，於播種後 12 週，每 3 支試管繼代為一母瓶，母瓶經培養 12 週後取生長約 1 cm 之小苗進行試驗。小苗定植試驗培養基分為 5 種，培養基配方詳見表 1(1、2 和 7-9 號培養基)。每瓶定植 20 株小苗，每處理 5 重複，小苗定植試驗培養於溫度  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光週期 12/12 hr，於光強度約  $56 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  之床架。

並於培養 12 週後以相同培養基進行繼代，於培養 24 週後取出瓶調查株高、葉數、根數、芽數、葉長寬、假球莖寬和根長。

#### (五) 小苗栽培

瓶苗出瓶前先置於遮雨網室中馴化 2 週，小苗出瓶後靜置於水盆中，待調查後每兩瓶以泥炭土混 3 號南海真珠石 (1:1) 為介質進行培養，培養容器為直徑 16 cm，盆高 11 cm 之紅塑盆，剛出瓶以保鮮膜覆蓋盆口保濕，於出瓶後兩週移除保鮮膜。小苗出瓶後培養於中興大學霧峰園藝試驗場遮雨網室。

#### (六) 統計分析

試驗數據使用 Costat (CoHort software, Minneapolis, USA) 統計軟體之最小顯著性差異測驗分析 (Least Significant Difference test, LSD)，檢測各處理間 5 % 的差異顯著性。

### 三、結果

表 2 插天山羊耳蒜種子和胚性狀調查

Table 2 Seeds and embryos characters of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama

Seed			Embryo				Air space (%)
length ( $\mu\text{m}$ )	width ( $\mu\text{m}$ )	volume ( $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$ )	length ( $\mu\text{m}$ )	width ( $\mu\text{m}$ )	rate (%)	volume ( $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$ )	
1019 $\pm$ 21	104 $\pm$ 3	2.93 $\pm$ 0.26	168 $\pm$ 4	52 $\pm$ 1	93.3	0.25 $\pm$ 0.015	91.0 $\pm$ 0.7

表 3 插天山羊耳蒜於不同培養基播種後 12 週之種子發芽率

Table 3 The germination rate of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama 12 weeks after sown in different media

Medium code	1	2	3	4	5	6
Germination rate (%)	74.7a	80.3a	25.6d	66.1b	75.2a	54.1c

#### (一) 種子性狀調查

經光學顯微鏡觀察並測量，插天山羊耳蒜之種子有胚率為 93.3%，種子長寬各約為 1019  $\mu\text{m}$  和 104  $\mu\text{m}$ ，而胚長寬各為 168  $\mu\text{m}$  和 52  $\mu\text{m}$  (表 2)，種子呈長線形，而胚則近長橢圓形，相較於種子體積 ( $2.93 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$ )，其胚較小 ( $0.25 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$ )，因此於種皮和胚之間具有較大的氣室空間，其氣室百分率約佔種子體積的 91% (表 2)。

#### (二) 種子發芽試驗

以不同鹽類濃度組成、活性碳和洋菜添加與否進行插天山羊耳蒜之播種試驗，於播種後 8 週開始有種子發芽，至播種後 12 週，於 1/2、1/4 濃度之 MS 培養基和 1/2 濃度之 VW 培養基之種子發芽率最高，有 74.7%-80.3% 的種子發芽率，而不添加活性碳之 3 號培養基種子發芽率最低，僅 25.6%，不添加活性碳而以液體培養之 6 號培養基，則較以 3 號培養基播種者提高發芽率至 54.1% (表 3)。以 1/2MS 播種之 2 號培養基雖然發芽率高，但種子發育較慢，於播種後 12 週調查時，大多仍在胚突破種皮階段，相較於其他培養基，除 3 號培養基外，於播種後 12 週胚大多已發育至原球體 (protocorm) 階段 (圖 1)。

#### (三) 小苗定植培養基試驗

於不同培養基培養插天山羊耳蒜瓶內小苗之試驗中，定植培養 24 週後無論株高和葉數，以 1/2MS 培養之 2 號培養基和另添加 NAA 之 9 號培養基兩種培養後最高，株高為 3.6-3.8 cm，而葉片數平均每株約有 1 片葉，根數、芽數和葉長寬方面於各處理間則無顯著差異，不添加椰子水或活性碳則會影響假球莖 (pseudobulb) 的寬度，假球莖寬度約減少 1.7-

2.0 mm，根長則是以 9 號培養基（另添加 0.1mg · L<sup>-1</sup>NAA）培養之 4.34 cm 最長（表 4 和圖 2A）。綜合以上結果插天山羊耳蒜小苗於瓶內培養時，以 2 號培養基或再添加 0.1mg · L<sup>-1</sup>NAA 可得到生長較好的植株。

插天山羊耳蒜小苗於調查後即進行出瓶培養，圖 2B 為 4-5 月間出瓶培養 3 週後，小苗於遮雨網室中生長之情形，然而培養約 5 週後，開始進入夏季氣候，小苗也開始出現大量死亡情形，僅剩少數於盆內仍留有假球莖。

### 四、討論

文獻指出插天山羊耳蒜種子屬線型，為台灣羊耳蒜屬中種子長寬比最大的，但型態狹長因此體積並非最大<sup>[5]</sup>，與本次測量數據結果相同。Tsutsumi *et al.*<sup>[19]</sup>研究指出，附生型羊耳蒜其種子較短並具有較大的胚，有利於提早發芽，而地生型羊耳蒜則有長種子、較小的胚和大的氣室，有利於種子飛散，因此由種子型態亦顯示插天山羊耳蒜屬地生型羊耳蒜。

MS 和 VW 培養基為蘭花無菌播種常用之基礎培養基，本研究結果顯示以此兩種鹽類配方並添加活性碳可得到 66.1%-80.3%的種子發芽率，而較低濃度更有利於種子發芽

與發育，彩雲兜蘭(*Paphiopedilum wardii* Sumerh.)和銅皮石斛[*Dendrobium moniliforme* (L.) Sw.]播種於 1/2MS 培養基也較播種於 MS 培養基和 VW 培養基有較高的種子發芽率、發芽生長指數和小苗形成數<sup>[7,22]</sup>，可能跟滲透壓太高，影響胚對水分的吸收有關。本研究中以不添加活性碳之 3 號培養基種子發芽率最低，而前人研究顯示於培養基中添加活性碳可吸收蘭花的發芽抑制物質，提高發芽率和小苗發育速率，如台灣白及、一葉蘭、竹葉蘭和圈柱蘭等<sup>[1,4,6,23]</sup>。Tsai & Chu<sup>[18]</sup>認為液體播種因增加水分吸收效率，因此提高了朵麗蝶蘭的種子發芽速度，而本研究中以液體播種之 6 號培養基相較於固體的 3 號培養基，不但提高插天山羊耳蒜之發芽速度，亦可提高種子發芽率（圖 1 和表 3）。

有機添加物如椰子水、香蕉泥和馬鈴薯泥除增加有機碳源，亦含有天然荷爾蒙、維生素和氨基酸等物質，同時添加椰子水、香蕉泥和馬鈴薯汁液對銅皮石斛幼苗生長有最好的效果，而添加椰子水也有利於彩雲兜蘭瓶內小苗的發育<sup>[7,22]</sup>。活性碳可吸附小苗釋放的酚類化合物，Roy *et al.*<sup>[15]</sup>研究顯示，添加活性碳可增加萬代蘭試管苗的株高、葉數、葉長寬、根數和根長，本研究中不添加椰子水或活性碳均不利於插天

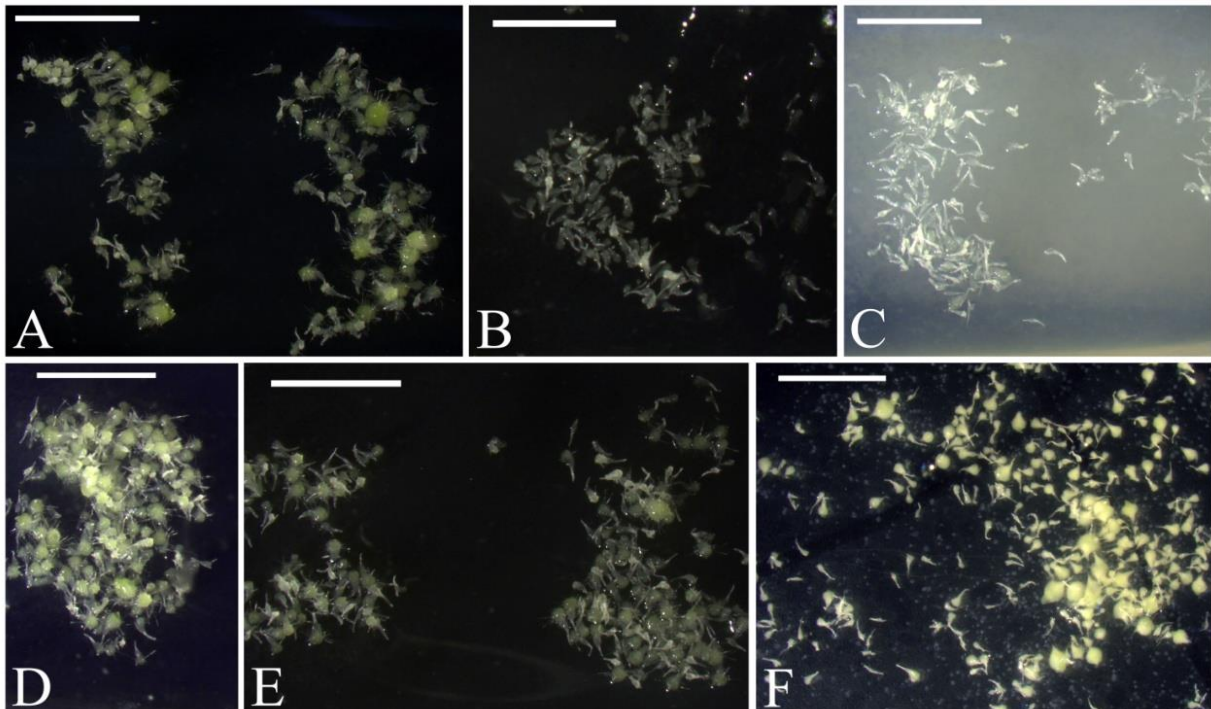


圖 1 插天山羊耳蒜播種後 12 週於各培養基之種子發芽情形；A 和 D-F 於 1 和 4-6 號培養基培養之種子已發育至原球體階段 B 培養於 2 號培養基之種子大多為胚膨大至突破種皮階段 C 培養於 3 號培養基之種子僅少數發芽（比例尺=5mm）

Fig. 1 The seeds germination of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama 12 weeks after sown on different media; A and D-F In media 1 and 4-6 the embryo become to protocorm, B In medium 2 the imbibed seeds, C In medium 3 only few seeds germination (bar=5mm).

山羊耳蒜之小苗發育，尤其會減少假球莖寬度。

插天山羊耳蒜喜潮濕陰涼之環境<sup>[8]</sup>，而由 Chiu *et al.*<sup>[10]</sup> 資料可知，其原生地年均溫 13.5°C，年降水量 2881 mm，亦屬全年均處於相對潤濕且涼爽的氣候環境。本次試驗出瓶時間為 4 月底 5 月初，培養於中興大學霧峰園藝試驗場，然培養約 5 週後出現植株大量死亡的現象，由中興大學霧峰園藝試驗場內放置的氣候資料記錄器(data logger)記錄顯示 4-5 月份均溫約為 23.4°C-25.5°C，而 6 月份均溫則達到約 28.8°C，因此推論植株死亡為氣溫升高所造成。

## 五、結論

插天山羊耳蒜成熟果實種子有胚率高，無菌播種發芽率也有 70%-80%，屬於種子品質好且無發芽障礙的蘭花。播種於鹽類濃度較低的培養基如 1/4 MS 並添加活性碳，對插天山羊耳蒜之種子發芽率較佳，瓶內小苗則培育於 1/2 MS 並添加活性碳及有機添加物（蛋白脛、馬鈴薯粉和椰子水）之培養基可有較好的生長勢。然而經由本試驗培養歷程顯示，插天山羊耳蒜瓶內小苗培育生長緩慢，試驗中由播種至出瓶至少需 12 個月以上。且其原生於冷涼高濕度的環境，不適合於台灣平地栽培，如需進行育苗可於山地農場或於秋冬季進行出瓶可提高存活率，並於進入夏季時移地栽培。

表 4 插天山羊耳蒜小苗於不同培養基培養 24 週後生長情形

Table 4 The seedlings of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama 24 weeks after culture in different media

Medium code	Plant height(cm)	Bud no.	Pseudobulbs width(mm)	Leaf(cm)			Root(cm)	
				no.	Length	Width	no.	length
1	2.9b	2.0a	6.5a	0.6b	1.4a	1.1a	1.9a	3.5ab
2	3.6a	1.9a	6.3a	1.0a	1.6a	1.0a	2.0a	3.8ab
7	2.8b	2.1a	4.5b	0.6b	1.3a	0.7a	1.9a	2.8b
8	2.9b	2.1a	4.5b	0.3b	1.6a	0.9a	1.8a	2.9b
9	3.8a	1.9a	5.8a	1.1a	1.5a	0.9a	2.2a	4.3a

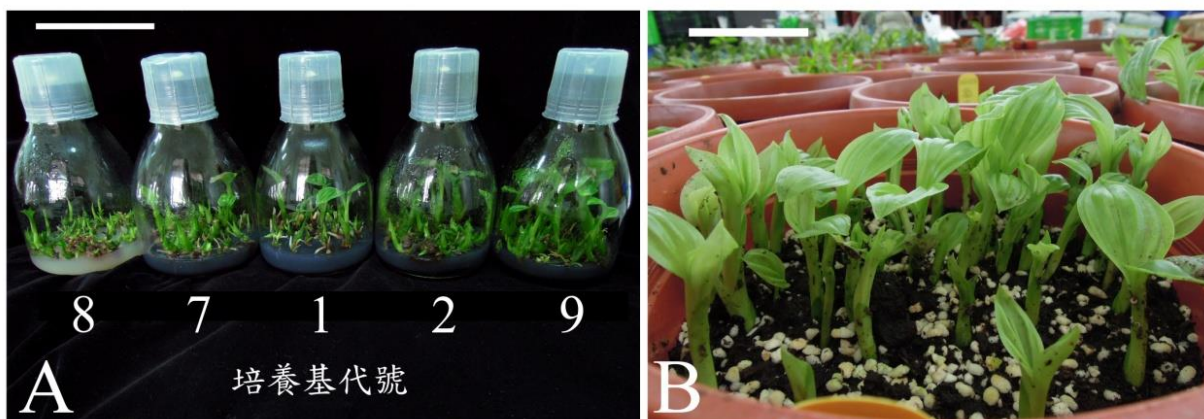


圖 2 插天山羊耳蒜小苗於瓶內及移出瓶後之生長情形；A 於不同培養基培養 24 週後之瓶苗（比例尺=9cm），B 幼苗出瓶培養 3 週後之生長情形（比例尺=2cm）

Fig. 2 The in vitro and in vivo culture of *Liparis sootenzanensis* Fukuyama seedlings; A Twenty four weeks after seedling culture in different mediums (bar=9cm), B Three weeks after seedling culture in greenhouse (bar=2cm).

## 參考文獻

- [1] 莊錦華、李岷 (1986) ·「活性碳、蔗糖與無機鹽類濃度對台灣 - 葉蘭種子發芽與小苗生長之影響」· 中國園藝 32: 61-69。
- [2] 張正、陳盈君、嚴新富 (2003) ·「綬草無菌播種與生長發育」· 中國園藝 49(4): 407-410。
- [3] 張正、陳盈君、嚴新富 (2005) ·「金稜邊蘭種子發芽形態研究」· 植物種苗 7(2): 47-55。
- [4] 曹進義、陳威臣、夏奇鈺 (2011) ·「培養基鹽類配方、活性碳與蔬果添加物對台灣白及無菌播種之影響」· 台灣農業研究 60: 77-88。
- [5] 楊智凱 (2006) ·「台灣產羊耳蒜屬植物之分類研究」· 國立中山大學生物科學系碩士論文 p.169。
- [6] 蔡函育、張正 (2012) ·「活性碳與蔗糖對竹葉蘭種子無菌發芽之影響」· 台灣園藝 58: 71-77。
- [7] 羅淑芳、郭昭麟、陳宗禮、蔡新聲 (2008) ·「台灣銅皮石斛的種子發芽及大量繁殖」· 台灣農業研究 57: 295-304。
- [8] 鐘詩文 (2008) · 台灣野生蘭下冊 p.p.78 · 行政院農業委員會林務局、七星生態保育基金會 · 台北。
- [9] 魏魯明、玉屏、餘登利 (2010) ·「插天山羊耳蒜 - 中國大陸蘭科植物新記錄」· 熱帶亞熱帶植物學報 18(4): 399-400。
- [10] Chiu, C. A., Lin P. H. and Lu K. C. (2009). "GIS-based tests for quality control of meteorological data and spatial interpolation of climatic data: a case study in mountainous Taiwan." *Mountain Research and Development* 29(4): 339-349.
- [11] Dutra, D., Kane M. E. and Richardson L. (2009). "Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Cyrtopodium punctatum*. a propagation protocol for an endangered Florida native orchid." *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 96: 235-243.
- [12] Dutra, D., Johnson T. R., Kauth P. J., Stewart S. L., Kane M. E. and Richardson L. (2008). "Asymbiotic seed germination, in vitro seedling development, and greenhouse acclimatization of the threatened terrestrial orchid *Bletia purpurea*." *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 94: 11-21.
- [13] Gale, S. W., Yamazaki J., Hutchings M. J., Yukawa T. and Miyoshi K. (2010). "Constraints on establishment in an endangered terrestrial orchid: a comparative study of *in vitro* and *in situ* seed germinability and seedling development in *Nervilia nipponica*." *Bot. J. of the Linn. Soc.* 163: 166-180.
- [14] Murashige, T. and Skoog F. (1962). "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- [15] Roy, A. R., Patel R. S., Patel V. V., Sajeev S. and Deka B. C. (2011). "Asymbiotic seed germination, mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griff ex.Lindl. (Blue Vanda): An in vitro protocol for an endangered orchid." *Sci. Hort.* 128: 325-331.
- [16] Su, H. J. (2000). "Orchidaceae. In: Huang TC *et al.* (eds.)," *Flora of Taiwan*, 2nd. ed., Vol. 5, pp. 963-968. Department of Botany, National Taiwan University. Taipei.
- [17] Swamy, K. K., Kumar H. N. K., Ramakrishna T. M. and Ramaswamy S. N. (2004). "Studies on seed morphometry of epiphytic orchids from western ghats of Karnataka." *Taiwania* 49(2): 124-140.
- [18] Tsai, W. T. and Chu C. Y. (2008). "Static liquid culture of *Doritaenopsis* seedlings." *HortScience* 43: 206-210.
- [19] Tsutsumi, C., Yukawa T., Lee N. Sook, Lee C. S. and Kato M. (2007). "Phylogeny and comparative seed morphology of epiphytic and terrestrial species of *Liparis* (Orchidaceae) in Japan." *J. Plant Res.* 120: 405-412.
- [20] Vacin, E and Went F. W. (1949). "Some pH changes in nutrient solutions." *Bot. Gaz.* 110: 605-613.
- [21] Yam, T. W. and Arditti J. (2009). "History of orchid propagation: a mirror of the history of biotechnology." *Plant Biotechnol. Rep.* 3: 1-56.
- [22] Zeng, S., Wu K., da Silva J. A. T., Zhang J., Chen Z., Xia N. and Duan J. (2012). "Asymbiotic seed

germination, seedling development and reintroduction of *Paphiopedilum wardii* Sumerh., an endangered terrestrial orchid." *Sci. Hort.* 138: 198-209.

- [23] Znaniecka, J., Krolicka A., Gorycka M. S., Rybczynski J. J., Szlachetko D. L. and Lojkowska E. (2005). "Asymbiotic germination, seedling development and plantlet propagation of *Encyclia aff. Oncidioides*-an endangered orchid." *Acta Societ. Botan. Pol.* 74: 193-198.

---

2014 年 08 月 16 日 收稿

2014 年 10 月 02 日 修正

2014 年 10 月 24 日 接受

國立中興大學



National Chung Hsing University